

Title	Carbohydrate Analysis of Immunoglobulin G Myeloma Proteins by Lectin and High Performance Liquid Chromatography : Role of Glycosyltransferases in the Structures
Author(s)	西浦, 哲雄
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37519
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・（本籍）	にし	うら	てつ	お
	西	浦	哲	雄
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9	4	9
		4		号
学位授与の日付	平成	3	年	2
		月	4	日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	Carbohydrate Analysis of Immunoglobulin G Myeloma Proteins by Lectin and High Performance Liquid Chromatography: Role of Glycosyltransferases in the Structures (IgG 骨髄腫蛋白における糖鎖構造の変異に関する研究 －骨髄腫細胞内糖転移酵素との関連－)			
論文審査委員	(主査) 教授	垂井清一郎	(副査) 教授	木谷 照夫 教授 谷口 直之

論文内容の要旨

【目 的】

最近 IgG 骨髄腫で血中モノクローナル (M) 蛋白糖鎖組成が変異していることが報告されている。しかしその臨床的意義や成因については未だ明らかでない。

本研究では、骨髄腫における糖鎖変異の臨床的意義を明らかにするために、多発性骨髄腫および非腫瘍性の monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) 患者について、血清 IgG の糖鎖構造をレクチン解析および HPLC 解析により詳細に検討した。さらに糖鎖変異が生じる機序を明らかにするために、骨髄腫細胞内の糖転移酵素活性を測定し、それぞれの血清 M 蛋白糖鎖構造と対比検討した。

【方 法】

MGUS 7 例, IgG 骨髄腫 22 例 (Ⅰ期 5 例, Ⅱ期 7 例, Ⅲ期 10 例), 対照 7 例の 36 例について検討した。骨髄腫の病期分類は, Durie と Salmon の分類に従った。

- ① レクチン解析: 患者血清を塩析後 DEAE カラムで IgG を分離精製した。精製 IgG を 10% SDS PAGE で還元下に泳動しニトロセルロース膜に転写後, ビオチン化レクチンと avidin-biotin peroxidase complex で発色した。今回用いたレクチンは galactose (Gal) を認識する Ricinus communis agglutinin (RCA) と mannose を認識する concanavalin A (Con A) で, densitometry によりレクチンでの発色比すなわち RCA/Con A 比を求めた。
- ② HPLC 解析: 精製 IgG をヒドラジン分解により糖鎖を分離精製後, 2-アミノピリジンで蛍光標識し neuraminidase 処理後 HPLC を用いて糖鎖構造を解析した。

- ③ 骨髓腫細胞内糖転移酵素活性の測定：galactosyltransferase(Gal-T)およびN-acetylglucosaminyl transferase Ⅲ (GnT Ⅲ)活性を検討した。患者骨髓より単核球を比重遠心法により分離，その cell lysate を蛍光標識した agalactosyl biantennary 糖鎖を基質としてUDP-galactose あるいはUDP-N-acetylglucosamine と反応し，その生成産物をHPLC解析し酵素活性を算定した。

【成績】

- ① レクチン解析：IgG 分画は正常人では，RCAにもConAにも強く反応したが，MGUS，骨髓腫症例では，ConA結合性は一定であったのに対しRCAに対する反応性は多様であった。RCA/ConA 比で定量化すると，正常IgGでは 1.40 ± 0.26 (mean \pm SD)，MGUS，骨髓腫Ⅰ期では正常IgGと有意差はなかった。一方骨髓腫Ⅱ期では7例中6例，Ⅲ期では10例中5例でRCA/ConA比が1以下を示し，Ⅱ期，Ⅲ期ではRCA/ConA比は正常IgGに比べ有意に低下していた ($p < 0.05$)。
- ② HPLC解析：正常IgG糖鎖は非還元末端のGalの有無によりagalactosyl糖鎖(Gal(0))，monogalactosyl糖鎖(Gal(1))，digalactosyl糖鎖(Gal(2))に大別され，正常人ではそれらの割合はほぼ一定であるとされている。正常人プール血清IgGではGal(0)の占める割合は24.9%であったが，症例ではGal(0)糖鎖の割合はRCA/ConA比と同様に多様(17.1%～70.3%)であった。RCA/ConA比とGal(0)の割合は負の相関($r = -0.87$ ， $n = 10$)を示したことから，骨髓腫進行例で認められたRCA/ConA比の低下はGalの欠損した糖鎖の増加(hypogalactosylation)に基づくことが明らかとなった。
- ③ Gal-T，GnTⅢ活性：骨髓腫細胞が骨髓単核球中60%以上を占める5例について，腫瘍細胞内Gal-TとGnTⅢ活性およびその血中M蛋白糖鎖構造を対比検討した。Gal-T活性は糖鎖組成とは関連しなかったが，Gal-T/GnTⅢ比はGal(2)の多い症例では高く，Gal(0)の多い症例では低かった。従ってIgG糖鎖のGal残基は互いに拮抗するGal-TⅢの相対的活性比と密接に関連していた。

【総括】

1. IgG 骨髓腫では，その臨床病期が進行するに従って，血中M蛋白糖鎖においてhypogalactosylationを呈する症例が増加することを明らかにした。
2. 骨髓腫IgG糖鎖のhypogalactosylationの成因には骨髓腫細胞内Gal-T活性の相対的な低下が関与していることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

本研究は，多発性骨髓腫及びMGUS(monoclonal gammopathy of undetermined significance)患者において増加している血清モノクローナルIgGの糖鎖構造をレクチン解析，HPLC解析により詳細に検討し，さらにそれぞれの症例について骨髓腫細胞内糖転移酵素活性を測定し，血中M蛋白糖鎖と対比検討したものである。

その結果、IgG 骨髄腫ではその臨床病期が進行するに従って、血中M蛋白糖鎖において hypogalactosylation を呈する症例が増加し、その成因に骨髄腫細胞内 galactosyltransferase 活性の相対的な低下が関与していることを明らかにした。

すなわち、本研究は IgG 骨髄腫におけるM蛋白の糖鎖変異の成因とその臨床的意義について新知見を提供し、骨髄腫の病態解明に貢献するものであり学位に値すると考える。